

УДК 579.69, 67.08

ТЕХНОЛОГИЯ БИОДЕГРАДАЦИИ ПОЛИМЕРОВ С ПОМОЩЬЮ МИКРООРГАНИЗМОВ КИШЕЧНИКА ГУСЕНИЦ *GALLERIA MELLONELLA*

П.И.Боровлева (Структурное подразделение БУ ОО ДО «Дворец пионеров и школьников им. Ю.А. Гагарина» Детский технопарк «Кванториум», г. Орел, Россия), **А.В.Санкова** (Структурное подразделение БУ ОО ДО «Дворец пионеров и школьников им. Ю.А. Гагарина» Детский технопарк «Кванториум», г. Орел, Россия), **А.А.Чумаков** (Структурное подразделение БУ ОО ДО «Дворец пионеров и школьников им. Ю.А. Гагарина» Детский технопарк «Кванториум», г. Орел, Россия)
Научный руководитель – канд. техн. наук А.Ю. Винокуров (Структурное подразделение БУ ОО ДО «Дворец пионеров и школьников им. Ю.А. Гагарина» Детский технопарк «Кванториум», г. Орел, Россия)

Уникальная микрофлора кишечника гусениц (*Galleria mellonella*) способна к разложению полимерных материалов. На основе консорциума выделенных микроорганизмов может быть создана технология утилизации полимерсодержащих отходов.

Введение. С каждым годом увеличивается количество мусорных отходов, и, если политика отношения к ним останется прежней, то к 2050 году около 12 млрд тонн пластика окажется на свалках или в других объектах окружающей среды. По литературным данным, 9% пластикового мусора перерабатывается, 12% сжигается, а 79% лежит на свалках.

Большая восковая моль, или огневка пчелиная (*Galleria mellonella*) – вид молевидных бабочек из семейства настоящих огневок. Она является вредителем медоносных пчёл, обладая способностью утилизировать воск в ульях. Благодаря уникальной микрофлоре кишечника может питаться и сходными по химическому строению полимерами, разлагая их до этиленгликоля. Скорость разложения полиэтилена при развитии 100 гусениц достигает 92 мг полимера за 12 часов. Способность *Galleria mellonella* к деградации полимеров обусловлена специфичной кишечной микрофлорой.

В связи с этим мы сформулировали **цель проекта**, которая заключается в выделении из гусениц огневок смешанной культуры микроорганизмов-деструкторов полимеров и разработать технологию утилизации полимерных отходов. Последняя может быть реализована как напрямую на полигонах, так и при использовании биореактора, возможно, она будет перспективнее.

Задачи: создать колонию гусениц (*Galleria mellonella*); выделить из кишечника смешанные культуры микроорганизмов с последующим их культивированием на специализированных средах; выяснить потенциал культур к разложению полимеров; на основе полученных данных разработать методику применения выделенных микроорганизмов.

Основная часть. Для поддержания и увеличения популяции колонии гусениц использовали сбалансированную кормовую смесь, включающую мед, воск, пшеничную муку, манную крупу, кукурузную крупу, глицерин и хлебопекарные дрожжи. Гусениц содержали при оптимальной температуре 22°C. В этих условиях наши «подопечные» активно размножались и росли до требуемого размера.

Для выделения культур микроорганизмов кишечника использовали селективную питательную среду с воском в качестве единственного источника углеводов. Состав среды: $\text{KH}_2\text{PO}_4 + \text{K}_2\text{HPO}_4 + \text{MgSO}_4 + \text{NH}_4\text{NO}_3 + \text{NaCl} + \text{FeSO}_4 + \text{ZnSO}_4 + \text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O} + \text{пчелиный воск} + \text{агар} + \text{эмульгатор}$.

Для получения отдельных групп микроорганизмов мы приготовили селективные среды. В одну из них добавили противогрибковое средство Amphotericin B (среда Антигриб) 2,5 мкг/мл; во вторую – смесь антибиотиков Penicillin-Streptomycin (среда Антибак): концентрация Penicillin – 5000 ед/мл, Streptomycin – 5000 мкг/мл. В третьей колбе

находилась контрольная среда. Для посева произвели выделение микроорганизмов из кишечника *Galleria mellonella*.

На среде Антибак был замечен мицелий серого цвета с черными спорангиями на поверхности, а также темно-зеленые вкрапления неправильной формы по краям чашки Петри. На среде Антигриб наблюдались колонии желтого и черного цветов, а на контрольной среде выросла смесь всего вышеперечисленного.

Проведенные прижизненное микроскопирование препаратов выросших колоний методом раздавленной капли, а также окрашивание по Граму препаратов культур со среды Антигриб позволили провести верификацию происхождения выделенных микроорганизмов на соответствие составу микробиома *Galleria mellonella*, известному из литературных источников. Мы можем предположить, что выделенные культуры относятся к грамотрицательным палочкам родов *Asaia*, *Brevundimonas*, *Rhizobium*, *Aeromonas*, *Shewanella*, *Pseudomonas*, *Strenotrophomonas*, *Ralstonia*, *Escherichia*, *Shigella*; грамотрицательным коккам рода *Acinetobacter*, грамположительным палочкам рода *Bacillus*.

Для проверки способности полученных смешанных культур к деструкции полимеров мы произвели посев микроорганизмов со сред Антибак и Антигриб на среду с полиэтиленом как единственным источником органического углерода: $\text{KH}_2\text{PO}_4 + \text{K}_2\text{HPO}_4 + \text{MgSO}_4 + \text{NH}_4\text{NO}_3 + \text{NaCl} + \text{FeSO}_4 + \text{ZnSO}_4 + \text{MnSO}_4 + \text{полиэтилен} + \text{Агар}$. Визуально оценивая результаты пересева, можно заметить развитие культур в виде черных колоний на среде Антигриб и серого мицелия на среде Антибак, из чего можно предположить о способности этих микроорганизмов разлагать полимеры и использовать продукты разложения в качестве углеродсодержащих субстратов для развития. Вероятно, обнаруженные представители *Zygomycota*, способные заражать насекомых, также обладают способностью к деструкции пластика и, возможно, их вклад в этот процесс весьма высок.

Выводы: в ходе выполнения работы были созданы оптимальные условия для увеличения колоний гусениц в домашних условиях; выделены из их кишечника смешанные культуры микроорганизмов, которые могут быть культивированы на специальных средах; показали соответствие микроорганизмов консорциума составу микробиома кишечника *Galleria mellonella*; подтвердили способность выделенного консорциума развиваться на содержащих полиэтилен в качестве субстратах средах. В настоящее время производится количественный анализ скорости разложения полимера. Дальнейшие действия по развитию проекта связаны с поиском оптимальных условий, обеспечивающих высокую интенсивность деструкции полимеров и их воссоздание в рамках технологии утилизации полимерсодержащих отходов с помощью биодеструкторов.